重组杆状病毒杀虫剂的生物安全性

林 同[1,2]，张传溪[1*]
（1. 浙江大学应用昆虫学研究所，杭州 310029；2. 东北林业大学森林资源与环境学院，哈尔滨 150040）

摘要：分别就重组杆状病毒杀虫剂对捕食性天敌和寄生性天敌的影响、与其它生物间的基因重组和生态效应等问题进行了综述。研究成果表明，重组病毒的生态适应性降低，因而对生态环境以及捕食性和寄生性天敌等非靶标生物种类的危险性也大大降低。但重组病毒也不是绝对安全的，对其生物安全性还要进行长期、深入全面地分析和研究。

关键词：生物安全；杆状病毒；野生病毒；重组病毒；杀虫剂；生态效应
中图分类号：S476.13；Q968.9 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296（2003）02-0244-06

The biosafety of recombinant baculovirus insecticides

LIN Tong[1,2]，ZHANG Chuan-Xi[1*]（1. Institute of Applied Entomology，Zhejiang University，Hangzhou 310029，China；2. Faculty of Forest Resources and Environment，Northeast Forestry University，Harbin 150040，China）

Abstract：This paper reviews the effect of recombinant baculovirus insecticides on the predatory and parasitic natural enemies of insect pests，the recombination between recombinant baculovirus and the genome of other organisms and the ecological effect of recombinant baculovirus. So far studies have shown that compared with wild-type baculoviruses，the ecological fitness of recombinant baculoviruses is reduced，thereby reducing the risks to ecosystems and non-target organisms such as predators and parasites. However，the use of the recombinant baculoviruses as biocontrol agents is not risk-free. The long term biosafety of recombinant baculoviruses needs to be profoundly and completely studied.

Key words：biosafety；baculoviruses；wild viruses；recombinant viruses；insecticides；ecological effect

昆虫杆状病毒可作为一类重要的生物杀虫剂，与传统的化学农药相比，对环境和人类比较安全，因而几十年来被世界各国用以防治害虫。但在野外条件下，昆虫病毒要在一周或更长的时间才能杀死宿主昆虫，限制了其广泛应用（Treacy *et al.*，2000；Lee *et al.*，2001）。人们采用基因工程的方法构建重组病毒杀虫剂，以缩短病毒的杀虫时间，削弱害虫的取食能力（张传溪，2001）。

早在70年代，大量的田间试验表明，在大田中使用野生杆状病毒杀虫剂是安全的。然而由于重组病毒杀虫剂增加了外源基因，或删除了某些基因，其安全性需要重新考虑（梁布锋等，1997）。比如，重组病毒对生物环境和非生物环境是如何影响的，对天敌是否安全等等，这些都是在注册、生产和应用重组病毒之前需要阐明和解决的问题。核多角体病毒（NPV）是杆状病毒科的一个属，目前重组病毒杀虫剂主要是指NPV的重组杀虫剂。本文就NPV重组杀虫剂的应用所涉及的生物安全性研究的最新研究进展做一综述，为重组病毒杀虫剂的商品化生产和田间应用提供参考和依据。

1 重组病毒杀虫剂对捕食性天敌的影响

许多文献报道了重组病毒对捕食性天敌的影响。Heinz等用苜蓿丫纹夜蛾 *Autographa californica* NPV（AcMNPV）和重组病毒AcMNPV.AaIT（在AcMNPV基因组中插入一种蝎子 *Androctonus australis* 的神经毒素基因AaIT）分别感染烟芽夜蛾 *Heliothis virescens*，捕食性天敌 *Chrysoperda carnea* 和 *Orius insidosus* 取食烟芽夜蛾后，在两种病毒处理组之间，*C. carnea* 幼虫到蛹发育时间、生存率没有明显不同，幼虫到成虫发育时间、生存率基本相同；两种病毒处理间 *O. insidosu* 的生存率相似。AcMNPV.AaIT对 *C. carnea* 和 *O. insidosus* 没有不利的影

基金项目：国家自然科学基金（30070032）；高等学校全国优秀博士学位论文作者专项资金（200055）
作者简介：林同，男，1969年6月生，黑龙江省通河县人，博士，讲师，研究方向为昆虫病毒分子生物学
* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：chxzhang@zjuem.zju.edu.cn
收稿日期 Received：2002-06-24；接受日期 Accepted：2003-01-09

响（Heinz *et al*.，1995）。Li 等将两种蝎子 *Leiurus quinquestriatus hebraeus* 和 *A*. *australis* 的神经毒素基因分别插入到 AcMNPV 和谷实夜蛾（美洲棉铃虫）*Helicoverpa zea* NPV（HzSNPV）基因组，构建成重组病毒；捕食性天敌红外来火蚁 *Solenopsis invicta*、大眼长蝽 *Geocoris punctipes* 和集栖瓢虫 *Hippodamia convergens* 取食健康的和感染有重组病毒、野生病毒的烟芽夜蛾后，消化能力、迁移和生殖力没有差别；每种天敌在所有处理中的生存曲线相似，生活史特征没有受到不利影响（Li *et al*.，1999）。Smith 等用 HzSNPV、AcMNPV 和重组病毒（分别在这两种野生病毒中插入昆虫选择性神经毒素基因 LqhIT2）做了较大规模的野外试验（Smith *et al*.，2000a），观察病毒对小花蝽 *Orius* spp.、小毛瓢虫 *Scymnus* spp.、锚斑长足瓢虫 *Hippodamia convergens*、姬蝽 *Nabis* spp.、大眼长蝽 *Geocoris* spp. 等的影响。实验显示，这些天敌的密度和多样性在重组病毒处理区和野生病毒处理区内基本相同，重组病毒和野生病毒对这些天敌种群具有相似的作用。

重组病毒（带有蝎子毒素或螨毒素，这些毒素在杆状病毒早期基因启动子控制下表达）感染群居黄蜂 *Polistics metricus* 后，在黄蜂体内可检测到毒素，但这些毒素对黄蜂的发育和活动没有影响。如果毒素基因由极晚期基因启动子调控，则在蜂体内不会检测到外源基因（Bishop，1994；梁布锋等，1997）。*S*. *invicta* 中的病毒不能传递给蚁王和卵；在被检测的 *G*. *punctipes* 208 个卵中，只有一个带有重组病毒，所以重组病毒是不能垂直转播的（Li *et al*.，1999）。

这些报道显示，重组病毒对捕食性天敌个体发育和种群特征等的影响很小，这与 Heinz 等和 McNitt 等的研究结果一致（Heinz *et al*.，1995；McNitt *et al*.，1995）。

人们关心的另一个问题是：重组病毒是否可以通过捕食性天敌向外扩散传播？Huang 等（1997）研究了 AcMNPV、家蚕 NPV（BmNPV）、舞毒蛾 *Lymantria dispar* NPV（LdMNPV）和黄杉毒蛾 NPV（OpMNPV）在 6 个目中 22 种昆虫体内的复制情况，发现这些病毒仅在鳞翅目昆虫中复制。捕食者取食被病毒感染的昆虫后，对其自身不造成危害，病毒也不在其体内复制，但可以从其体内流出，且有生物活性。步甲取食被病毒感染的鳞翅目幼虫后，其粪便中含有杆状病毒（Vasconcelos *et al*.，1996）。因而，可能存在一种潜在的途径，通过该途径，重组病毒可能通过捕食性天敌扩散。那么捕食性天敌取食染毒昆虫后，自身可能携带多少病毒；带有重组病毒后，扩散的范围有多大；为回答这些问题，Smith 等（2000a）检测从野外采集的捕食天敌，结果 1.7%带有病毒；0.68%带有重组病毒；带有重组病毒的小花蝽 *Oritus* sp. 和集栖瓢虫 *H*. *convergens* 分别在 2 天内和 5 天内移动了 16.8～81.0 米、21.5～54.0 米。可见，重组病毒通过捕食天敌的移动而获得的扩散力（单位时间内形成新的浸染循环的次数）很有限。

2　重组病毒杀虫剂对寄生性天敌的影响

相对于捕食性天敌而言，重组病毒对寄生性天敌的影响可能更大。因为宿主中的内寄生天敌不仅取食宿主组织，并且还接触由重组病毒表达的毒素；感染重组病毒的宿主可能比感染野生病毒的宿主死亡得更快，导致寄生天敌不能完全发育（Smith *et al*.，2000b）。

通过产卵等途径，从染毒宿主发育出来的寄生天敌雌成虫通过散布病毒粒子感染其它幼虫（Sait *et al*.，1996）。McCutchen 等（1996）把大量病毒接种到宿主昆虫上，从宿主羽化出来的 *Microplitis croceipes* 中，大约 40%带有重组病毒，因而重组病毒就有通过 *M*. *croceipes* 传播的可能性。但 Smith 等（2000b）发现羽化的寄生蜂不携带病毒 DNA（Smith *et al*.，2000b），表明病毒 DNA 不存在于寄生蜂组织中，减少了重组病毒传播的可能性。McCutchen 等（1996）的另一项研究认为，*M*. *croceipes* 在感染了野生病毒的烟芽夜蛾中完成生活史的比例和从感染了重组病毒的烟芽夜蛾中羽化出来的比例一致，但在后者中发育的寄生天敌的成虫明显比从前者中羽化出来的小。然而根据 Smith 等（2000b）的试验结果，重组病毒处理组和野生病毒处理组间 *M*. *croceipes* 的羽化率和性比相同；从感染重组病毒和野生病毒的烟芽夜蛾羽化出来的寄生天敌的大小和头宽相似；总之，野生病毒和重组病毒对内寄生蜂发育的影响相似，重组病毒通过寄生蜂向外传播的可能性也很小。

McCutchen 等（1996）和 Smith 等（2000a，2000b）的试验分别是在室内和野外进行的，实验室的研究结果为野外实验提供了参考，但危险评价最终还要在野外进行。因为野外生态环境更为复杂，其中有很多生物和非生物因素影响病毒的适应

性，对它们的相互关系要综合判断，仅从实验室的有限数据很难准确预测重组病毒的潜在危险。近几年的研究多是在野外进行的，这将是以后研究的侧重点。

3 重组病毒的生态效应

关于释放重组病毒的生态效应，都有在野外（Bishop *et al*.，1986；Wood *et al*.，1990；Cory *et al*.，1994）和温室（Lee *et al*.，2001）试验方面的报道。这些报道研究了重组病毒和野生病毒竞争的情况，得出的结论是：和野生病毒相比，重组病毒的适应性降低，对环境的影响也很低；在野外，重组病毒总比野生病毒的危险性低（Hails *et al*.，2002）。

病毒杀死昆虫越快，病毒生产量（被病毒感染而死亡的昆虫个体生产的包涵体的数量）越少；重组病毒也是这样（Cory，2000）。重组病毒表达的毒素影响了病毒的复制，导致生产量降低。例如，和野生病毒相比，AcMNPV.AaIT 使粉纹夜蛾 *Trichoplusia* ni 的死亡时间缩短大约 30%，但 AcMNPV.AaIT 生产量减少 80%多；带有疥螨毒素基因 Txp-1 的重组病毒 AcMNPV.Txp-1 使粉纹夜蛾的死亡时间缩短 50%，其生产量减少了 95%（Kunimi *et al*.，1996）；带蝎毒素基因的重组病毒的产量比野生病毒的少 4～10 倍（Ignoffo *et al*.，2000）。

杀虫速度的提高和随之而来的病毒生产量的减少的比例关系是很复杂的，受病毒的种类和剂量、幼虫的虫态等因素影响（Burden *et al*.，2000；Hernandez-Crespo *et al*.，2001），对重组病毒适应性的影响是深刻的。病毒产量的减少降低了重组病毒在野外的适应性，最终重组病毒竞争不过野生病毒（Burden *et al*.，2000）。现在已经有描述昆虫病毒如何调节宿主种群密度的模型（Briggs and Godfray，1995）。把从草疥螨 *Pyemotes tritici* 分离出来的麻痹性神经毒素基因 *tox*34 插入 AcMNPV 基因组构建的重组病毒，其生产量大大减少（Burden *et al*.，2000）。于是，这样的模型能预测到重组病毒会遇到野生病毒的有力竞争而被淘汰，生产量业已减少的重组病毒不会侵入非靶标宿主种群并在那里形成感染（Fuxa *et al*.，1998；Hails and Cory，1999）。

比如，英国自然环境研究理事会病毒研究所进行了重组病毒的第一次野外试验。重组病毒带有β-半乳糖苷酶基因，而没有多角体蛋白基因。结果有多角体蛋白的野生病毒在环境中能持久存在，而无多角体蛋白基因的重组病毒却不能（Bishop *et al*.，1986）；美国康乃尔大学 Boyce Thompson 植物研究所在田间释放了无多角体的重组 AcMNPV（Wood *et al*.，1990），重组病毒不能持久存在；向田间喷洒含多角体的病毒和不含多角体的重组病毒后，无多角体的重组病毒比有多角体的病毒消失得更快（吕鸿声，1998）。Lee 等（2001）在温室小生境中释放野生 AcMNPV（AcMNPV.WT）、重组病毒 AcMNPV.AaIT 和 AcJHE.SG（带有突变的保幼激素酯酶基因），在粉纹夜蛾种群中没发现 AcMNPV.AaIT，AcMNPV.WT 很易流行，在土壤中累计的数量比 AcMNPV.AaIT 或 AcJHE.SG 多，在与重组病毒的竞争中获胜；后者数量下降，在生态系统内持续生存力（在野外环境中包涵体持续生存的能力）降低，环境风险也因此降低。Fuxa 等（2001）报道了野生病毒和重组病毒在土壤中的持续生存能力和分布情况。他们用野生病毒 HzSNPV（HzSNPV.WT）和重组病毒 HzSNPV.LqhIT2 处理烟芽夜蛾和谷实夜蛾后，在土壤中 HzSNPV.WT 累积的包涵体的数量比 HzSNPV.LqhIT2 的多一倍；而在土壤内只能探测到 HzSNPV.LqhIT2 微量的痕迹。把 AcMNPV、AcMNPV.AaIT 和 AcMNPV.JHE-S201G（在 AcMNPV 中表达保幼激素酯酶）接种到土壤后，病毒包涵体的数量在这些处理中没有差异（Fuxa *et al*.，2001）。由于重组病毒不能产生多角体，在野外失活，因而野生病毒最终占据优势（Wood *et al*.，1990），Wood 等（1994）的野外试验也证明了这一点。

重组病毒在环境中持续生存力下降会影响其扩散力。*L*. *dispar* 在两块森林样地中分别建立了实验种群和对照种群后，两块样地中的树皮、枯枝落叶和土壤样本中都不含有 LdGEV（LdMNPV 中带有β-半乳糖苷酶基因）（Elkinton *et al*.，1999）。可见，重组病毒没有扩散，在生境中也没有残留。感染 AcMNPV.AaIT 的粉纹夜蛾和烟芽夜蛾被麻痹后，从植物上掉下，不会再爬上去（Cory *et al*.，1994；Hoover *et al*.，1995）。重组病毒向外扩散的机会大为减少，因而不太可能在环境中形成侵染循环（Cory，2000）。

4 经基因修饰后的病毒与其他生物间的基因重组

人们关注的另一个重要问题是：昆虫病毒经基

因修饰后，插入到其中的外源基因（如 AaIT 毒素基因等）能否“跳跃”到其它生物体而发生基因重组。事实上，一些关键因子如距离、病毒复制的模式和同源性程度等限制供体和受体 DNA 间的基因重组（Black *et al*.，1997）。

Milks 等发现，当 AcMNPV 和粉纹夜蛾 NPV 同时感染粉纹夜蛾幼虫时，这两种病毒并不发生重组。其原因可能是细胞一旦被一种病毒感染，对另一种病毒就有抗性（Milks *et al*.，2001）。同样，这种情况也可能发生在重组病毒，即重组病毒难以和其它病毒重组，于是避免了外源基因的扩散。

但如果在野外长时间使用较高浓度的重组病毒，其中的外源基因可能和其它生物，尤其是与重组病毒同源性很高的杆状病毒发生基因重组（Hajos *et al*.，2000）。Inceoglu 等（2001）根据 Lee（2001）和 Cory 等（1994）的研究结果，认为有一个强大的负选择压施加在重组病毒上，该病毒很快被野生病毒所淘汰（Inceoglu *et al*.，2001），因而与其他病毒发生重组的可能性大为降低。Wood 等（1994）把无包含体的核型多角体病毒释放到大田中，研究这种病毒与自然界中野生型病毒的重组情况。最初两种病毒各占一半；第二年和第三年无包含体的核型多角体病毒各占 9% 和 6%，表明野生型病毒容易恢复到原来的水平，无包含体的核型多角体的病毒不会在自然界中长期滞留，也就不易与其他生物发生基因重组，从另一角度证明在田间释放重组病毒是安全的（梁布锋等，1997）。

5　重组病毒环境释放安全性评价案例

在飞机喷洒病毒制剂过程中，尤其在防治森林害虫时，病毒制剂可能通过飘移污染附近的水域。在加拿大，按照规定，注册微生物杀虫剂时，一定要在水生环境中进行安全试验。Kreutzweiser 等比较了枞色卷蛾 *Choristoneura fumiferana* 病毒爱尔兰株（CfNPV）和重组病毒（在 CfNPV 的 *egt* 基因区域插入 *lacZ* 标记基因）对水生微生物群落的影响。在 *egt* 基因区域插入标记基因可能削弱了病毒多角体的完整性，或者使其产生了生理改变，结果重组病毒不能维持很长时间。从安全性的角度看，这种改变对环境是有利的。野生病毒和重组病毒对水生生境内的微生物组成及其呼吸活动、细菌丰度及其代谢反应等指标都没有明显影响（Kreutzweiser *et al*.，2001）。

中国科学院武汉病毒研究所胡志红等把 AaIT 插入棉铃虫 *Heliothis armigera* NPV（HaSNPV）基因组，并缺失部分 *egt* 基因序列，构建了重组病毒工程株 HaGFPAaIT *egt* ，对 HaGFPAaIT*egt* 的定殖能力、传播扩展能力、与植物、动物和其他微生物的生态关系、毒性和致病性等安全性指标进行了评价（黄大囷等，2001）。

HaGFPAaIT *egt* 感染棉铃虫幼虫获得的多角体数量较野生型病毒 HaSNPV 少 70% ~ 90%，因此在宿主体内的繁殖能力较野生型病毒低。由于重组病毒作用快，子代产量较野生型病毒低；另一方面由于感病昆虫出现麻痹症状，容易从植株跌落，减少了与传播媒介如寄生天敌和捕食动物等的接触机会，也减少了因污染植株而传播给宿主子代的机会，因而 HaGFPAaIT *egt* 传播扩展能力较野生型病毒低。蝎毒素为特异性昆虫神经毒素，对植物和其他微生物没有影响，对脊椎动物的神经系统没有活性，对捕食性和寄生性天敌（如蜘蛛、小化蜂、马蜂、步甲、螳螂和草蛉等）均无可检测的病理影响。HaGFPAaIT *egt* 的形态结构和细胞病理学特性等与野生型 HaSNPV 无明显差异，与 HaSNPV 一样，对植物、动物和其他微生物无不良影响，对脊椎动物（小鼠）无害。HaSNPV 作为生物农药产品已获农药登记，在此基础上制造的重组病毒产品不会影响产品的任何其他成分，产品配方和已登记注册的野生型病毒完全一样，安全性不会改变。农业部生物基因工程安全委员会审批意见（农基安审字 99A-02-06）是：工程株 HaGFPAaIT *egt* 安全等级为Ⅰ级，同意进行田间试验，试验规模是 0.1 公顷。

6　结语与展望

评估重组病毒的生物安全问题，要研究它的适应性。适应性包括 3 个重要组分：生产力、扩散力和持续生存力，这些组分间的关系是很复杂的，对其要进行长期和综合的研究，比如，病毒生产力的变化是如何影响持续生存力的；对具有不同生活史和敏感性的宿主而言，适应性的各组分是如何变化的等等，只有这样，得出的结果才更可靠，更能经得起实践的检验。

目前的实验证据表明，重组病毒是比较安全的。然而，还不能说重组病毒绝对安全，因为人们对重组病毒的生态学和宿主范围的进化等许多问题

的理解还不完全；同时，也应注意到任何风险评估都应在相对危险的背景下进行，比较对象也应是我们要取代的害虫防治方法（Hails，2001），例如和化学农药相比，重组病毒杀虫剂毕竟安全得多。随着安全性研究全面、深入地进行，以此为基础，最大限度地降低重组病毒的潜在危险，相信重组病毒杀虫剂具有广阔的发展空间和前景。

参 考 文 献 （References）

Bishop D H L，1986. UK release of genetically markers virus. *Nature*，323：496.

Bishop D H L，1994. Biopesticides. *Curr. Opin. Biotechnology*，5（3）：307 – 311.

Black B C，Brennan L A，Dierks P M，Card I E，1997. Commercialization of baculoviral insecticides. In：Miller L K ed. The Baculovirus. New York：Plenum Press. 341 – 387.

Briggs C J，Godfray H C J，1995. The dynamics of insect-pathogen interactions in stage-structured populations. *American Naturalist*，1 456：855 – 887.

Burden J P，Hails R S，Windass J D，Marie-Marthe S，J S Cory，2000. Infectivity speed of kill and productivity of a baculovirus expressing the itch mite toxin Txp-1 in second and fourth instar larvae of *Tricholusia ni*. *J. Invertebr. Pathol.*，75：226 – 236.

Cory J S，2000. Assessing the risks of releasing genetically modified virus insecticides：progress to date. *Crop Protection*，19：779 – 785.

Cory J S，Hirst M L，Williams T，Hails R S，Goulson D，Green B M，Carty T M，Possee R D，Cayley P J，Bishop D H L，1994. Field trial of a genetically improved baculovirus insecticide. *Nature*，370：138 – 140.

Fuxa J A，Fuxa R，Richter A R，1998. Host insect survival time and disintergration in relation to population density time and dispersion of recombinant and wild-type nucleopolyhedroviruses. *Biological Control*，12：143 – 150.

Fuxa J R，Matter M M，Abdel-Rahman A，Micinski S，Richer A R，Fexner J L，2001. Persistence and distribution of wild-type and recombinant nucleopolyhedroviruses in soil. *Microbiol. Ecol.*，41（3）：222 – 232.

Hails R S，Cory J S，1999. Evaluating risks of genetically modified baculoviruses in the environment. *Aspects of Applied Biology*，53：197 – 204.

Hails R S，Hernandez-Crespo P，Sait S M，Onnelly C A D，Green B M，Cory J S，2002. Transmission patterns of natural and recombinant baculoviruses. *Ecology*，83（4）：906 – 916.

Hails R，2001. Natural and genetically modified baculoviruses：environmentally friendly pest control or an ecological threat? *Outlook on Agriculture*，30（3）：171 – 178.

Hajos J P，Pijnenburg J，Usmany M，2000. High frequency recombination between homologous baculoviruses in cell cultures. *Archives of Virology*，145：156 – 164.

Hernandez-Crespo P，Steven M S，Rosemary S H，Cory J S，2001. Bahavior of a recombinant baculovirus in Lepidopteran hosts with different susceptibilities. *Appl. Environ. Mcrobiol.*，67（3）：1 140 – 1 146.

Hoover K，Schultz C M，Lane S S，Bonning B C，Duffey S S，McCutchen B F，Hammock B D，1995. Reduction in damage to cotton plants by a recombinant baculovirus that knocks moribund larvae of *Heliothis virescens* off the plant. *Biological Control*，5：419 – 426.

Huang D F，2001. Genetic Engineering of Agricultural Microorganism. Beijing：Scientific Press. 513 – 521. [黄大 ，2001. 农业微生物基因工程. 北京：科学出版社. 513 – 521]

Huang X P，Thomas R D，Patrick H，Alan Wood，1997. Potential replication of recombinant baculovirus in nontarget insect species：Reporter gene products as indicators of infection. *J. Invertebr. Pathol.*，69：234 – 245.

Ignoffo C M，Wong J F H，McCutchen W F，2000. Yields of occlusion bodies from *Heliothis virescens*（Lepidoptera：Noctuidae）and *Helicoverpa*（*Heliothis*）*zea*（Lepidoptera：Noctuidae）larvae fed wild or recombinant strains of baculoviruses. *Appl. Entomol. Zool.*，35（3）：389 – 392.

Inceoglu A B，Shizuo G K，Andraw G H，Huang Q，Severson T F，Kyung-don K，Hammock B D，2001. Recombinant baculoviruses for insect control. *Pest Manag. Sci.*，57：981 – 987.

Kreutzweiser D，Laura E，Janelle S，Conklin J，Holmes S，2001. Comparative effects of a genetically engineered insect virus and a growth-regulating insecticide on microbial communities in aquatic microcosms. *Ecotoxicology* and *Environmental Safety*，48：85 – 98.

Kunimi Y，Fuxa J R，Hammock B D，1996. Comparison of wild type and genetically modified nuclear polyhedrosis viruses of Aurographa californica for mortality，virus replication and polyhedra production in *Trichoplusia ni* larvae. *Entomol. Exp. Appl.*，81：251 – 257.

Lee Y，Fuxa J R，Inceoglu A B，Alaniz S A，Richter A R，Reilly L M，Hammock B D，2001. Competition between wild-type and recombinant nucleopolyhedroviruses in a greenhouse microcosm. *Biological Control*，20：84 – 93.

Li J B，Heinz K M，Flexner J L，McCutchen B F，1999. Effects of recombinant baculoviruses on three nontarget heliothine predators. *Biological Control*，15：293 – 302.

Liang B F，Liu R Z，Zhang Y Q，1997. Development and field trials of recombinant baculovirus insecticides. *Chinese Journal of Biological Control*，13（4）：179 – 181. [梁布锋，刘润忠，张友清，1997. 重组杆状病毒杀虫剂的研制和田间试验. 中国生物防治，13（4）：179 – 181]

Lu H S，1998. Molecular Biology of Insect Viruses. Beijing：China Agricultural Scientech Press. 637 – 642. [吕鸿声，1998. 昆虫病毒分子生物学. 北京：中国农业科技出版社. 637 – 642]

McCutchen B F，Herrmann R，Heinz K M，Parrella M P，Hammock B D，1996. Effects of recombinant baculoviruses on a nontarget endoparasitoid of *Hehiothis virescens*. *Biological Control*.，6：45 – 50.

McNitt L，Espelie K E，Miller L K，1995. Asseing the safety of toxin-producing baculovirus iopesticides to a nontarget predator，the social wasp *Polistes metricus*. *Say*. *Biological Control*，5：267 – 278.

Milks M L，Mhchelle L，David A T，2001. Recominant and wild-type nucleopolyhedroviruses are equally fit in mixed infections. *Biological Control*.，30（5）：972 – 981.

Sait S M，Begon M，Thompson D J，Harvey J A，1996. Parasitization of baculovirus-infected *Plodia interpunctella* by *Venturia canescens* and subsequent virus transmission. *Funct. Ecol.*，10：586－591.

Smith C R，Kevin M H，Christopher G S，Lindsey Flexner J，2000a. Impact of recombinant baculovirus applications on target heliothines and nontarget predators in cotton. *Biological Control*，19：201－214.

Smith C R，Kevin M H，Christopher G S，2000b. Impact of recombinant baculovirus field applications on a nontarget heliothine parasitoid，*Microplitis croceipes*（Hymenoptera：Braconidae）. *J. Econ. Entomol.*，93（4）：1 109－1 117.

Treacy M F，Rensner P E，All J N，2000. Comparative insecticidal properties of two nucleopolyhedrovirus vectors encoding a similar toxin gene chimer. *Biological and Microbial Control*，93（4）：1 096－1 104.

Vasconcelos S D，Williams T，Hails R S，Cory J S，1996. Prey selection and baculovirus dissemination by carabid predators of Lepidoptera. *Ecological Entomology*，21：98－104.

Wood H A，Hughes P R，Shelton A，1994. Field studies of the co-occlusion atrategy with genitically altered isolate of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. *Environ. Entomol.*，23：211－219.

Wood H A，Hughes P R，van Beek N，1990. An ecologically acceptable strategy for the use of genetically engineered baculovirus pesticides. In：Borkoves A B，Master E P eds. Insect Neurochemistry and Neurophysiology. Humana：Clifton. 285－288.

Zhang C X，2001. The molecular biology and genetic engineering of insect baculovirues. In：Cheng J A，Tang Z H eds. In：Insect Molecular Science. Beijing：Science Press. 264－284.［张传溪，2001. 昆虫杆状病毒的分子生物学和基因工程. 见：程家安，唐振华主编. 昆虫分子科学. 北京：科学出版社. 264－284］